Муниципальное бюджетное общеобразовательное учреждение «Лицей № 14» города Пензы

«Динамика накопления микроорганизмов в воздухе школьных кабинетов»

Выполнила: Гапонова Анна Александровна, 10 «А» класс, муниципальное бюджетное общеобразовательное учреждение «Лицей № 14» г.Пензы.

Руководитель: Бородина Жанна Алексеевна, учитель биологии высшей категории, муниципальное бюджетное общеобразовательное учреждение «Лицей № 14» г.Пензы.

Научный консультант: д.б.н, профессор, завкафедрой «Биология, биологические технологии и ветеринарно-санитарная экспертиза», Боряев Геннадий Иванович.

Пенза 2021 год

^{⊠ -} 440008, г. Пенза, ул. Шевченко, 14

Телефон /841-2/ 45-47-49; e-mail: School14 <school14@guoedu.ru>

Содержание

Введение	3
Глава 1 Особенности микробного состава воздушной среды школ	тьного кабинета
(по данным литературы)	4
Глава 2 Характеристика материалов и использованных методов	8
Глава 3	
3.1. Результаты исследования	12
3.2.Выводы	16
Заключение	17
Литература	18

Введение

Качество жизни человека, которое в первую очередь определяется состоянием здоровья, зависит от большого количества факторов окружающей среды. Важным объектом окружающей среды, способным оказать важное влияние на здоровье, является воздушная среда. Определенное значение при проведении микробиологического анализа воздуха такие загрязнители, как биологические аэрозоли (бактерии и грибы). Микробиология воздуха помещений жилых и общественных зданий во много раз превышает обсемененность наружного воздуха, объясняет способность что микроорганизмов вступать с организмом человека в самые разные взаимоотношения — от симбиоза до паразитизма. В соответствии с действующей нормативной документацией микробиологический анализ воздуха необходимо проводить на предмет обнаружения патогенных микроорганизмов. Микробиологический анализ воздуха проводят с целью определения содержания в воздухе бактерий, их видов и численности.

Выбор школьного помещения в данной работе не случаен. Школа — это место, где постоянно находится много людей. Это место, где дети проводят большую часть дня. Происходит постоянный обмен микрофлорой, приносимой на одежде, обуви, а также контаминантной или патогенной и условно-патогенной микрофлорой человека.

Цель данной работы-определение уровня микроорганизмов в воздухе школьных кабинетов на протяжении дня.

По ходу выполнения работы решались следующие задачи:

- 1. Проработать актуальные литературные источники по заданной теме;
- 2. Определить количество микроорганизмов в школьном помещении в разное время дня;
- 3. Оценить динамику уровня загрязненности в выбранном помещении;
- 4. Предложить рекомендации по устранению имеющейся проблемы.

Гипотезой исследования послужило предположение, что уровень микроорганизмов в школьном кабинете на протяжении учебного дня будет меняться и это будет зависеть от времени суток и степени очистки воздуха в кабинете.

Объект исследования-микроорганизмы в воздухе школьного кабинета.

Предмет исследования-динамика накопления микроорганизмов в воздухе школьного кабинета.

Методы исследования-теоретический анализ литературных данных, статистический, седиментационный (метод Коха)

Актуальность данного исследования достаточно высока, если учесть повсеместную ситуацию пандемии с коронавирусом. Далеко не во всех городах учащиеся перешли на дистанционное обучение. Многие, как в нашем городе, обучаются в обычном формате с соблюдением всех санитарных требований Роспотребнадзора. За каждым классом закреплено конкретное школьное помещение или кабинет. И достаточно важно в данной ситуации посмотреть на микробный состав в воздухе школьных кабинетов, и на то, какова их динамика на протяжении учебного дня.

Россия не одинока в своем стремлении наладить очный учебный процесс. По данным UNICEF, тренд поддержало более 70 стран. Научное сообщество все еще не выработало однозначного мнения о том, насколько велика роль детей в распространении коронавируса.

Глава 1. Особенности микробного состава воздушной среды школьного кабинета (по данным литературы).

Современный человек большую часть суток (до 20–22 ч) проводит в закрытых помещениях различного назначения, в которых имеется немало источников загрязнения воздуха. Воздух плохо вентилируемых закрытых помещений — жилые помещения, аудитории, больничные палаты, кинотеатры и др. — неблагоприятно влияет на самочувствие людей. Появляются жалобы на духоту, затруднение дыхания, тяжесть головы, головную боль, потливость, сонливость, падение умственной, а затем и физической работоспособности. На примере школы, воздействие загрязнителей воздуха в значительной мере не поддается контролю со стороны отдельных лиц (учеников) — для этого требуются действия со стороны администрации. Снижая уровень загрязнения воздуха в помещениях, можно уменьшить количество болезней, вызванных респираторными инфекциями, заболеваний сердца и рака легких.

Микрофлора воздуха очень разнообразна и насчитывает сотни видов, но преобладают в воздухе спорогенные и образующие пигмент сапрофитные бактерии. Среди микроорганизмов, обитающих в воздухе, существуют как сапрофиты, так и паразиты, приспособившиеся к обитанию в живых организмах животного или растительного происхождения. Многие из них способствуют развитию инфекционных заболеваний у людей, животных, растений, обуславливают порчу пищевых продуктов, разрушают объекты окружающей среды. Патогенная микрофлора попадает в воздух вместе с капельками слюны и мокроты при кашле, разговоре, чиханье, а также вместе с частичками пыли из почвы и с различных предметов. Микрофлора воздуха характеризуется непостоянством, т. к. представлена микроорганизмами, обитающими в почве и воде. Воздух, обсемененный крупными бактериальными каплями, представляет собой малоустойчивую систему. Длительность нахождения в воздухе микробов и дистанция их распространения в этой фазе невелики. Речменский С. С. [1] установил многофазный характер бактериальных капель.

Мелкие бактериальные капли имеют ничтожный вес, что способствует их длительному нахождению в воздухе и рассеиванию на большие расстояния. Скорость их движения измеряется величиной 0,3 мм в секунду. Мелкокапельная фаза имеет большое эпидемиологическое значение — с мелкими каплями по воздуху рассеиваются различные микроорганизмы, даже чувствительные к внешним воздействиям микробы и вирусы — палочки коклюша, инфлюэнцы, менингококка, кори и т. д. Быстрота движения в воздухе бактериальной пыли определяется интенсивность воздушных вихрей и может колебаться от 0,3 м/мин до 0,3 м/с. Роль бактериальной пыли состоит в распространении с воздушными течениями тех видов

микроорганизмов, которые при высыхании не теряют жизнеспособности (возбудитель туберкулеза, споровые формы). В последнее время все острее встает проблема микробиологического загрязнения воздуха, причиной которого является деятельность человека.

В основном в атмосферном воздухе встречается три группы организмов:

- 1) патогенные формы;
- 2) почвенные спороносные аммонифицирующие и гнилостные микроорганизмы;
- 3) плесневые грибы и дрожжи.

Бактериальная обсемененность воздуха жилых помещений во много раз превышает обсемененность наружного воздуха. Микрофлора воздуха закрытых помещений отличается по своему характеру. Здесь в большом количестве содержатся микробы — нормальные обитатели носоглотки человека, а также патогенные микробы, попадающие из полости рта при кашле, чихании, разговоре, смехе. Вторым источником воздушной патогенной флоры служат открытые очаги поражений на любых участках тела. Большие скопления людей и длительность пребывания их в плохо вентилируемых помещениях способствуют максимальному загрязнению воздуха патогенной флорой.

Санитарная микробиология изучает микрофлору окружающей среды, взаимоотношение микрофлоры с организмом, влияние микрофлоры и продуктов ее жизнедеятельности на состояние здоровья человека, разрабатывает мероприятия, предупреждающие неблагоприятное воздействие микроорганизмов на человека..[3, 4]

К нитевидным бактериям относятся актиномицеты. [3]

По классификации Берджи, бактерии делятся на 4 отдела: грациликуты – бактерии с тонкой клеточной стенкой, грамотрицательные; фирмикуты – бактерии с толстой клеточной стенкой, грамположительный; тенерикуты – бактерии «мягкие», «нежные» без ригидной клеточной стенки; мендозикуты – архебактерии, отличающиеся дефектной клеточной стенкой. [4]

Клеточная стенка у грамположительных бактерий толще, чем у грамотрицательных. Большую часть массы (40-90%) клеточной стенки грамположительных бактерий составляет пептидогликан (муреин), кавалентно связанный с тейхоевыми кислотами. В клеточной стенке грамотрицательных бактерий пептидогликана содержится меньше (5-10%). Именно благодаря свойству пептидогликана взаимодействовать с краской, грамположительные бактерии способны при окраске по Граму удерживать генциановый фиолетовый в комплексе с йодом. [6,7].

Дрожжи в составе микрофлоры воздушной среды встречаются часто и находятся в состоянии спор.

Глава 2. Характеристика материалов и использованных методов.

Для решения поставленных задач нами был проведен уже второй год подряд (и дополнен) эксперимент по определению микробной загрязненностью учебного кабинета №301 МБОУ «Лицей №14», (кабинета, где обучается автор исследования), перед началом уроков (8-00 часов, после второго урока -в 10.15 часов, и после обработки воздуха установкой-бактерицидный рециркулятор (рис.1). Данный очиститель (облучатель) предназначен для обеззараживания воздуха в помещениях. Обеззараживание воздушного потока происходит в процессе его принудительной циркуляции через корпус, внутри которого размещена бактерицидная, небольшой мощности, ультрафиолетовая лампа.

Рис.1. Рециркулятор бактерицидный



Предварительно в условиях биохимической лаборатории ФГБОУ ВО Пензенский государственный аграрный университет были приготовлены питательные среды для микроорганизмов. Сначала готовили мясопептонный бульон (МПБ). Для приготовления

мясо -пептонных сред мы использовали *мясной бульон*, который получали следующим образом: 500 г мелко изрубленного свежего мяса без костей, жира и сухожилий заливали в эмалированной кастрюле 1 л водопроводной воды, нагретой до 50°С, и оставляли настаиваться 12 ч при комнатной температуре. Мясо отжимали, экстракт процеживали через марлю со слоем ваты и кипятили 30 мин для свертывания коллоидных белков и фильтровали дважды (первый раз через марлю с ватой, второй — через бумажный фильтр). Фильтрат доливали водой до 1 л, разлили в колбы, закрыли ватными пробками и стерилизовали в лабораторном стерилизаторе при 120°С 20 мин (пробки колб закрывают сверху колпачками из бумаги). Ватные пробки должны быть плотными, так как они служат фильтром, препятствующим проникновению бактерий из воздуха после стерилизации.

Мясной бульон может быть использован в любое время для приготовления соответствующих сред. Для приготовления МПБ к 1 л мясного бульона добавляли 5—10 г *пептона* (первый продукт гидролиза белка) для повышения калорийности среды и 5 г *поваренной соли* для создания осмотической активности. Среду нагревали до растворения пептона, постоянно помешивая.

Затем устанавливали нейтральную или слабощелочную реакцию среды, приливая 20%-ный раствор Na_2CO_3 до посинения влажной красной лакмусовой бумажки. После установления pH среду снова кипятили 5—10 мин, и белки, свернувшиеся при изменении реакции среды, отфильтровывали через бумажный фильтр без осветления бульона. Мясопептонный агар (МПА) готовили следующим образом. К 1 л МПБ добавляли 15—20 г агар-агара. Среду нагревали до растворения агара (температура его плавления — 100 °C, затвердевания — 40 °C), устанавливали слабощелочную реакцию среды 20%-ным раствором Na_2CO_3 . Затем мясопептонный агар разливали по чашкам Петри.



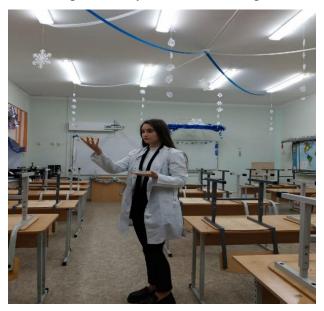
Рис.2.Мясопептонный агар разливается по чашкам Петри.

При разливе агара необходимо следить за тем, чтобы МПА не остывал ниже 55С и распределялся по чашке равномерным слоем. После застывания чашки готовы для работы.

Для определения количества микроорганизмов в воздухе нами был использован седиментационный метод. Седиментационный метод (метод Коха) основан на оседании

пылинок и капель вместе с микроорганизмами на поверхность питательной среды в открытых чашках Петри.

Контроль воздуха помещений проводили следующим образом. После застывания



агара чашки переносили в исследуемое помещение, открывали крышки, чтобы вся поверхность питательной среды была открыта полностью. Чашки оставляли открытыми в течение 5 минут (рис.3).

Рис.3. 5-минутная экспозиция перед уроками для оседания микроорганизмов в чашки Петри.

Затем чашки закрывали, переворачивали вверх дном и помещали в

термостат.

Чашки с МПА выдерживают при температуре 37 °C в течение 24 ч.

Для определения количества микроорганизмов в 1 м³ воздуха пользуются формулой В.Л. Омелянского, согласно которой на поверхность чашки площадью 100 см² оседает в течение 5 мин столько микроорганизмов, сколько их содержится в 10 дм³ воздуха:

 $X = a \cdot 100 \cdot 5 \cdot 100/ST$,

где а - число колоний, выросших на чашке; 100 - пересчет площади чашки на 100 см²; 5 - экспозиция чашки по Омелянскому, мин; 100 - пересчет на 1 м³ воздуха; S - площадь чашки Петри (78,5 см²); T - время экспозиции открытой чашки, мин.

С каждой чашки проводили окрашивание микроорганизмов методом Грамма. Перед тем как начать окрашивание, готовили мазки исследуемых бактерий. Для этого на предметное стекло капают воду и бактериальной петлей добавляют туда культуру микроорганизмов. Затем, после полного высыхания воды, мазок фиксируют - предметное стекло проносят несколько раз над пламенем горелки. Окрашивание мазков по Граму более эффективно, чем окрашивание живых бактерий - с мертвыми клетками лучше связываются молекулы красителя. Окрашивание производится в несколько этапов: на фиксированный мазок накладывают небольшие кусочки фильтровальной бумаги и наливают основной краситель — генцианвиолет, спустя 3-5 минут снимают окрашенную фильтровальную бумагу и заливают мазок раствором Люголя на 1 минуту. При этом препарат темнеет. Сливают раствор Люголя и обрабатывают мазок чистым этиловым спиртом: капают несколько капель на препарат, спустя 20 секунд сливают.

Процедуру повторяют 2-3 раза. Промывают стекло с исследуемым препаратом дистиллированной водой. Производят дополнительное окрашивание - докрашивают препарат фуксином. Спустя 1-2 минуты краситель смывают. После высыхания воды изучают мазок под микроскопом. Грамположительные бактерии будут иметь сине-фиолетовый цвет, грамотрицательные - розовый или красный.



Рис.4. Приготовленные мазки

Глава 3. Особенности динамики накопления микроорганизмов в воздухе школьных кабинетов.

3.1. Результаты исследования.

В своем **первом** исследовании мы обнаружили, что в контрольном варианте (то есть до начала уроков) в воздухе кабинета 317 класса находилось 600±30,2 единиц микроорганизмов на 1м3. В контрольной чашке выросли колонии бактерий и ни одной колонии грибов и дрожжей (рис.8). Эти данные соответствуют норме.

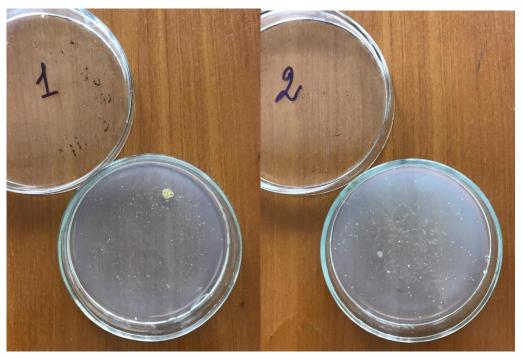


Рис.5 Выросшие колонии после первого контрольного исследования.



Рис. 6 Преобладали грамотрицательные бактерии палочковидной формы

В **опытном** (после 2-х уроков) варианте выросло число колоний бактерий и дрожжей, что составило вместе 1040±80,9 единиц микроорганизмов на 1м3 (рис.7). Это число не превышает норму. Все данные представлены в таблице 1.

Кабинет	Кол-во единиц	Степень загрязненности
	микроорганизмов на 1 м3	воздуха
Первое контрольное	600±30,2	Норма
исследование		
Опытное	1040±80,9	Не превышает норму
исследование		
Второе контрольное	660 ±50,5	Норма
исследование		

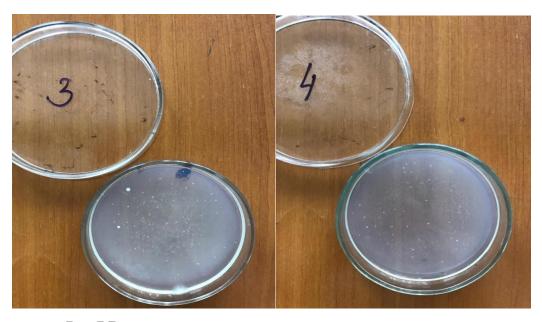
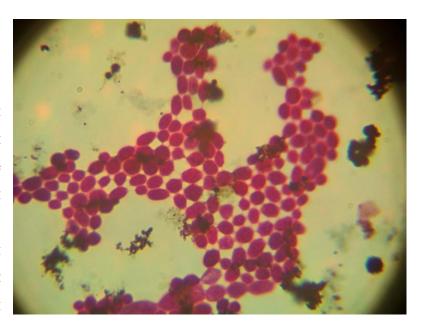


Рис. 7 Выросшие колонии после опытного исследования.

Рис. 8 Дрожжевые клетки после опытного исследования

Во втором контрольном исследовании после обработки воздуха в кабинете бактерицидным рециркулятором наблюдалось 660±50,5 микроорганизмов на м3. Среди обнаруженных колоний большинство составляли колонии дрожжей (рис.10).



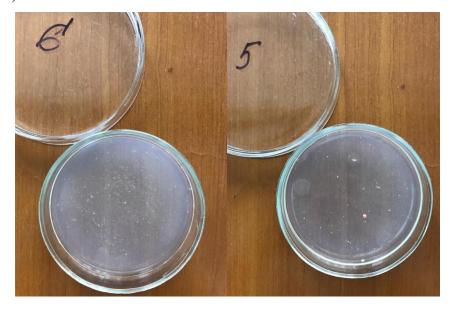
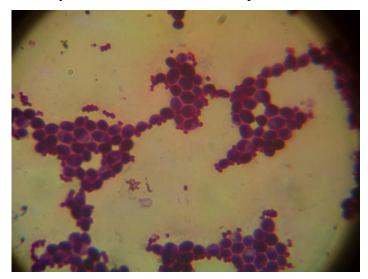


Рис. 9 Выросшие колонии после второго контрольного исследования.

Рис. 10 Дрожжевые клетки после второго контрольного исследования

Дрожжевые клетки могли быть занесены в помещение с частичками пищи, в частности, с хлебобулочными или кондитерскими изделиями. Нами установлено, что дрожжи



не подвергаются уничтожению бактерицидной установкой. Вероятно, в воздухе школьного кабинета присутствовали не только вегетативные дрожжевые клетки, но и их споры, которые при попадании на питательную среду проросли и дали развитию колонии.

3.2. Выводы.

- 1.Освоен седиментационный метод (метод Коха).
- 2. Установлено, что в первом контрольном варианте (до начала уроков) в воздухе кабинета 301 находилось 600±30,2 единиц микроорганизмов на 1м3. Полученные данные не превышают допустимые санитарные нормы. С угра школьные кабинеты моются с бактерицидными средствами и проветриваются.
- 3. В опытном варианте (после уроков) количество микроорганизмов выросло до 1040±80,9 единиц микроорганизмов на 1м3, включая дрожжи. Это число также не превышает норму, но наблюдается существенное превышение от первоначального уровня. Количество микроорганизмов закономерно выросло после 2,5 ч. Дрожжевые клетки, вероятно, были внесены после поедания учащимися на переменах различных видов кондитерских изделий.
- 4. Во втором контрольном варианте, после обработки воздуха кабинета бактерицидным рециркулятором, количество микроорганизмов снизилось до 660 ±50,5 единиц микроорганизмов на 1м3. Остались в большей степени дрожжи. Данный вид микроорганизмов в воздухе достаточно устойчив и клетки не погибают под действием обработки.
- 5. Гипотеза исследования подтверждена.

Заключение.

Основная задача санитарно-микробиологического исследования воздуха — гигиеническая и эпидемиологическая оценка воздушной среды, а также разработка комплекса мероприятий, направленных на профилактику аэрогенной передачи возбудителей инфекционных болезней. Микрофлора воздуха закрытых помещений более однообразна, чем у атмосферного воздуха, и относительно стабильна. Среди микроорганизмов доминируют обитатели носоглотки человека, в том числе патогенные виды, попадающие в воздух при кашле, чихании или разговоре.

Основной источник загрязнения воздуха патогенными видами — бактерионосители. Уровень микробного загрязнения зависит, главным образом, от плотности заселения, активности движения людей, санитарного состояния помещения, в том числе пылевой загрязнённости, вентиляции, частоты проветривания, способа уборки, степени освещённости и других условий. Так, обработка бактерицидным рециркуляторомснижает обсеменённость воздуха практически вдвое (по сравнению с контрольными помещениями). Проведенный бактериологический анализ воздуха установил нахождение микроорганизмов в воздухе закрытого помещения. Микрофлора обнаруженных организмов очень разнообразна, а воздух является для них естественным путем распространения. Отмечено немало дрожжей. Это связано с питанием учащихся. При достаточно высоких значениях содержания дрожжей в воздухе помещений может наблюдаться негативное влияние на иммунитет человека. Рекомендации по устранению этого факта сводятся к более частому проветриванию помещения, проведению ежедневной влажной уборки (не только мытье пола, но и вытирание пыли на полках, столах, подоконниках). Так же очевидна польза от облучения бактерицидным рециркулятором.

Влиянию микроорганизмов мы подвергаемся на улице, дома и на рабочих местах, и взаимосвязь между чистотой воздуха и здоровьем населения становится очевидной. Рекомендации по устранению этого факта сводятся к более частому проветриванию помещения, проведению ежедневной влажной уборки (не только мытье пола, но и вытирание пыли на полках, столах, подоконниках).

Литература

- 1. Поздеев О.К. Медицинская Микробиология. М.ГЭОТАР-Мед, 2002,- 578 с.
- 2. Н. Н. Николайкин, Н.Е. Николайкина, О. П. Мелехова. Экология. М., Дрофа. 2004. 622 с.
- 3. Шлегель, Г. Общая микробиология/ Г. Шлегель; пер. с нем. Л.В. Алексеевой, Г.А. Куреллы и Н.Ю. Несытовой, науч. ред. Е.Н. Кондратьевой. Москва: Мир, 1987. 567с.: ил.
- 4. Лысак, В.В. Микробиология: учеб. Пособие/ В.В. Лысак. Минск: БГУ, 2007. 426с.: ил.
- 5. http://mikrobio. balakliets. kharkov. ua/contents-1-4. Html
- 6. http://lektsii. org/3-130865. Html
- **7.** http://studopedia. ru/15_127038_vse-metodi-otbora-prob-vozduha-mozhno-razdelit-na-sedimentatsionnie-i-aspiratsionnie.